

THÈSE DE
PARIS.

1889

N^o. 41.

002
Série A, n^o 121

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

Par M. Élisée DUBOURG

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR L'AMYLASE DE L'URINE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 18 juillet 1889, devant la Commission d'examen.

MM. TROOST, *Président*.

BOUTY,

DUCLAUX,

} *Examineurs.*

BORDEAUX

IMPRIMERIE G. GOUNOUILHOU

11, RUE GUIRAUDE, 11

1889

N° D'ORDRE
662
Série A, n° 121

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

Par M. Élisée DUBOURG

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR L'AMYLASE DE L'URINE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 18 juillet 1889, devant la Commission d'examen.



MM. TROOST, *Président.*

BOUTY,
DUCLAUX, } *Examineurs.*

BORDEAUX

IMPRIMERIE G. GOUNOUILHOU

11, RUE GUIRAUDE, 11

1889

ACADÉMIE DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

MM:

DOYEN HÉBERT, Professeur..... Géologie.

PROFESSEURS HONORAIRES } PASTEUR.
DUCHARTRE.

DE LACAZE-DUTHIERS.. Zoologie, Anatomie, Physio-
logie comparée.
HERMITE Algèbre supérieure.
TROOST Chimie.
FRIEDEL Chimie organique.
O. BONNET Astronomie.
DARBOUX Géométrie supérieure.
TISSERAND Astronomie.
LIPMANN Physique.
HAUTEFEUILLE Minéralogie.
BOUTY Physique.
PROFESSEURS APPELL Mécanique rationnelle.
DUCLAUX Chimie biologique.
BOUSSINESQ Mécanique physique et expé-
rimentale.
PICARD Calcul différentiel et calcul
intégral.
POINCARÉ Calcul des probabilités, Phy-
sique mathématique.
YVES DELAGE Zoologie, Anatomie, Physio-
logie comparée.
BONNIER Botanique.
DASTRE Physiologie.
DITTE Chimie.

PROFESSEURS ADJOINTS... } WOLF Physique céleste.
CHATIN Zoologie, Anatomie, Physio-
logie comparée.
JOLY Chimie.

SECRÉTAIRE PHILIPPON.

A MON PÈRE

A MONSIEUR U. GAYON

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE BORDEAUX

Hommage de profonde reconnaissance.

E. DUBOURG.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

RECHERCHES

SUR

L'AMYLASE DE L'URINE

INTRODUCTION

La nature et l'origine des éléments nombreux de l'urine ont attiré dès longtemps l'attention des chimistes et des physiologistes; les modifications observées dans la composition de ce liquide ont également provoqué un nombre considérable de travaux concernant soit les produits minéraux, soit les produits organiques.

M. Béchamp étudia, en 1865 ⁽¹⁾, un de ces derniers composés, auquel il donna le nom de *néfrozymase*, voulant indiquer par là sa fonction *diastase* et son origine rénale. Le savant professeur de Montpellier démontra que cette nouvelle diastase saccharifiait l'amidon et se rapprochait ainsi de la diastase de l'orge germée; il vit qu'elle était incapable d'intervertir le sucre; puis, adoptant aussitôt une méthode de dosage, il étudia les variations de la *néfrozymase* sous les diverses influences: le sexe, l'âge, le régime, et, enfin, dans divers cas pathologiques.

Lorsque M. Béchamp aborda l'étude de la *néfrozymase*, on savait encore bien peu de chose des modifications subies par l'amidon, sous l'influence des amylases. La découverte du maltose par Dubrunfaut ⁽²⁾ avait pour ainsi dire passé inaperçue, et les

⁽¹⁾ A. Béchamp, *Sur la Néfrozymase, matière albuminoïde-ferment de l'urine* (Montpellier médical, 1865).

⁽²⁾ Dubrunfaut, *Note sur le Glucose* (Annales de chimie et de physiques, (3), t. XXI, 1847).

discussions de Payen et Musculus⁽¹⁾ avaient porté sur un point tout spécial; ce n'est que plus tard, en 1872, que O'Sullivan⁽²⁾, après avoir confirmé les expériences de Dubrunfaut, fixa d'une manière précise les pouvoirs rotatoire et réducteur du maltose. C'est ce qui explique pourquoi M. Béchamp négligea l'étude des transformations provoquées par la néfrozymase.

Quelque intérêt que paraisse devoir présenter l'étude d'une diastase dont la présence est constante dans l'urine, ce travail n'a pas été repris, à ma connaissance du moins.

De nombreuses recherches ont été faites dans ces derniers temps concernant les diastases de l'urine, en Allemagne surtout; mais il semble que les expérimentateurs aient concentré tous leurs efforts sur l'étude de la pepsine qu'on a trouvée également dans l'urine, et c'est à peine si les ouvrages les plus récents mentionnent l'existence de la *néfrozymase* : je citerai les traités de physiologie de Beaunis, de Küss et Duval, la chimie biologique de Würtz, le volume de Schlagdenhauffen et Garnier (*Encyclopédie chimique*).

J'ai essayé de combler cette lacune, dans l'espoir de contribuer à la solution des problèmes encore si obscurs touchant les transformations provoquées par les diastases de l'organisme.

J'ai divisé mon travail en quatre parties principales :

Un premier chapitre sera consacré à l'étude des meilleures conditions d'expérience.

Dans le second, je m'efforcerai d'établir le rôle de la diastase et par suite sa nature.

L'influence des conditions physiques, chimiques et physiologiques fera l'objet du troisième chapitre.

Le quatrième, enfin, comprendra les expériences réalisées dans le but de fixer l'origine de la diastase.

(1) Musculus, *Remarque sur la transformation de la matière amylacée en glucose et dextrine*, 1860 (même recueil, (3), t. LX). *De la Dextrine* (même recueil (4), t. VI).

Payen, *Réaction de la diastase sur la substance amylacée*, 1865 (même recueil, t. IV et VII).

(2) C. O'Sullivan, *Action de l'extrait de malt sur l'amidon* (*Journal of the chemical Society*, 1872. — *Moniteur scientifique*, (3), t. IV, 1874).

Toutes mes recherches ont été faites sous la direction bienveillante et éclairée de M. le professeur Gayon ; je suis heureux de pouvoir remercier publiquement mon savant maître des utiles et affectueux conseils qu'il n'a cessé de me donner, durant tout le cours de mon travail. Je n'aurai garde d'oublier encore mon excellent ami P. Garnault, dont j'ai pu apprécier, maintes fois, la complaisance et l'habileté.

CHAPITRE I

Etude des meilleures conditions d'expérience.

I

Les diastases étant des composés mal définis, ni volatils ni cristallisables, on ne possède pas de moyen d'en faire un dosage exact. A la vérité, elles sont insolubles dans l'alcool, et, si on traite, par un excès de ce liquide, la solution de ce composé, on obtient un précipité qui le renferme; mais les diastases sont ordinairement accompagnées de matières albuminoïdes inertes et celles de l'urine ne font pas exception à cette règle. Si l'on fait un traitement de ce liquide à l'alcool, on précipitera donc, en même temps, les autres matières albuminoïdes, et aussi les sels minéraux et organiques insolubles dans ce liquide.

M. Béchamp a néanmoins employé le procédé de dosage qui suit : « L'urine étant soigneusement filtrée, afin d'éliminer le » mucus de la vessie et les autres matières qui peuvent être en » suspension, le meilleur moyen d'obtenir la précipitation de » la matière albuminoïde-ferment de l'urine, sans précipiter en » même temps une trop grande quantité de phosphates qu'elle » tient en dissolution, consiste à ajouter l'alcool par fractions et » s'arrêter au moment où le précipité devient floconneux. Pour » atteindre ce résultat, il faudra rarement employer plus de » trois volumes d'alcool à 88° pour un volume d'urine. Cela fait, » on laisse le précipité se rassembler pendant quelques heures; » quelquefois, il faut attendre vingt-quatre heures. On décante » ensuite la majeure partie du liquide surnageant et on recueille le

» produit précipité sur un filtre. Après l'avoir lavé avec de l'alcool
» au titre de 75°, jusqu'à ce que celui-ci ne dissolve plus rien, on
» le laisse égoutter pour dissiper l'alcool qui l'imprègne, on fait
» dessécher à 100° et on pèse. On incinère ensuite et on pèse de
» nouveau; cette dernière pesée donne le poids des cendres; par
» différence, on aura le poids du ferment. »

C'est, à peu de chose près, le procédé employé par Dubrunfaut pour obtenir la diastase du malt, mais M. Béchamp est sans doute le premier qui ait utilisé cette méthode pour un dosage.

L'auteur a trouvé en moyenne 0 g. 60 de diastase par litre d'urine, et il remarque que la néfrozymase est beaucoup moins active que la diastase de l'orge germée.

Ce procédé laisse à désirer de deux manières : d'une part on pèse, comme diastase, les matières albuminoïdes d'une nature différente et, aussi, certains composés organiques (urée, urates, créatines, etc.) précipités par l'alcool, et qui sont altérés ou disparaissent par l'incinération; d'autre part, les filtrations entraînent des pertes ainsi que toutes les manipulations exigées par cette méthode de dosage. Les filtres en papier retiennent, en effet, une certaine quantité de diastase : Kulz ⁽¹⁾, Ch. Richet ⁽²⁾, Roberts ⁽³⁾ ont observé ce fait avec du suc gastrique et du suc intestinal. J'ai pu moi-même obtenir, en vingt-quatre heures, 1 g. 2 de sucre réducteur par litre, en mettant, dans 100 centimètres cubes d'empois d'amidon, un filtre sur lequel j'avais fait passer 500 centimètres cubes d'urine.

Mais s'il n'est pas possible de doser ainsi la diastase, on peut heureusement résoudre le problème d'autre manière. Avec une diastase saccharifiant l'amidon, il suffira, en se plaçant toujours dans les mêmes conditions expérimentales, de connaître la quantité des produits formés par l'amylase, c'est-à-dire, dans le cas qui nous occupe, le sucre réducteur. On pourra négliger le dosage des dextrines qui ne sont que des produits intermédiaires de

(1) Kulz, *Deutsch. Zeitschr. für pract. Medicin.*, 1875.

(2) Ch. Richet, *Du Suc gastrique*, thèse pour le doctorat ès sciences.

(3) William Roberts, *Les Ferments digestifs* (traduction française);

l'action de la diastase; leur transformation finale en sucre devant d'ailleurs se produire.

J'aurai l'occasion de montrer plus loin que l'amylase de l'urine pousse l'hydratation de l'amidon jusqu'au glucose; mais, comme l'action est lente et que le maltose apparaît tout d'abord, j'ai ordinairement calculé le sucre réducteur en maltose.

Ces principes posés, il me reste à étudier précisément les conditions d'expérience dont j'ai parlé plus haut.

II

Une des difficultés qui troublent souvent les résultats dans l'étude des liqueurs contenant des matières albuminoïdes, provient de l'invasion des microorganismes. Les divergences d'opinion qu'on remarque n'ont la plupart du temps pas d'autre origine.

Je devais donc adopter une méthode qui me permit d'écarter cette cause d'erreur, sans gêner cependant l'action des diastases.

Pour obtenir des liquides purs ou stériles, on emploie d'ordinaire les températures élevées ou les températures basses, les filtres en terre poreuse et enfin les antiseptiques.

J'ai cité les températures élevées pour mémoire, car il est bien évident que l'étude d'une diastase n'est pas possible dans ces conditions.

L'emploi des glacières présente quelques inconvénients : Comme le fait observer M. Duclaux, dans une étude critique sur les diastases digestives ⁽¹⁾, si le liquide est d'avance peuplé de germes, on peut redouter que le froid n'entrave pas d'une façon absolue la sécrétion des diastases par les microbes déjà présents. En outre, la méthode est lente, car les amylases n'agissent que faiblement à 0°; si même la diastase est affaiblie ou trop diluée, il pourra arriver qu'on n'ait pas de transformation appréciable après quarante-huit heures de contact, tandis qu'à 50° l'amylase aura manifesté sa présence après vingt-quatre heures.

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, novembre 1888, p. 613.

Avec le filtre Gautier ou le filtre Chamberland, on peut obtenir des milieux entièrement dépourvus de microbes. Malheureusement, ces filtres retiennent une certaine proportion de diastase, au début de la filtration surtout, ainsi que l'ont établi les expériences de Brown et Héron ⁽¹⁾, de Dupetit ⁽²⁾, de M. Bourquelot ⁽³⁾, de M. Cazeneuve ⁽⁴⁾. Comme, dans l'étude que j'avais entreprise, je devais avoir à faire des dosages comparatifs, le procédé eût été infidèle.

Il me restait donc la méthode basée sur l'emploi des antiseptiques; c'est celle que j'ai adoptée, car elle est commode, rapide et aussi rigoureuse que la précédente.

M. Müntz a démontré depuis longtemps ⁽⁵⁾ que le chloroforme n'a pas d'action sur ce qu'il appelle les fermentations d'ordre chimique. Après lui, on a essayé les produits les plus variés et l'on a vu que les doses nécessaires pour enrayer l'action des diastases étaient ordinairement supérieures, chez la plupart des antiseptiques, à celles qu'il faut employer pour rendre stériles les milieux fermentescibles.

Comme le chloroforme réduit la liqueur de Fehling, après M. Kjeldahl ⁽⁶⁾, j'ai adopté le thymol qui ne présente pas cette cause d'erreur. M. Chamberland a d'ailleurs démontré ⁽⁷⁾ que le thymol est, avec le sublimé, un antiseptique des plus énergiques; à la dose de 1/2200^e, il rend toutes les cultures stériles.

J'ai toujours eu soin d'additionner les liqueurs de 1/1000^e de thymol, dose plus que suffisante pour prévenir le développement

(1) Brown et Héron, *Beiträge zur Kenntniss der Stärke und der Umwandlungen derselben* (Ber. d. d. chem. Gesellsch., 12).

(2) Dupetit, *Mémoire sur les principes toxiques des champignons* (Société des Sciences physiques et naturelles de Bordeaux, 1887).

(3) E. Bourquelot, *Recherches sur les propriétés physiologiques du maltose*. (*Journal de l'anatomie et de la physiologie*, 1886).

(4) Cazeneuve, *Observations critiques sur l'emploi des filtres en plâtre pour stériliser les liquides à ferments* (*Bulletin de la Société chimique*, t. XLII).

(5) Müntz, *Comptes rendus*, t. LXXX, 1875.

(6) Kjeldahl, *Travaux du laboratoire de Carlsberg*, 1879.

(7) Chamberland, *Les Essences au point de vue de leurs propriétés antiseptiques* (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1887).

de tous microbes; je me suis assuré, tout d'abord, que, dans ces conditions, le thymol ne gênait pas l'action de l'amylase :

J'ai mis à l'étuve (50°) des fioles contenant des doses croissantes de thymol et la même quantité d'urine et d'empois d'amidon ⁽¹⁾.

	Maltose formé 0/0	
	après 4 heures.	après 24 heures.
a Fiole témoin sans thymol.	0.48	1.35
b 1/2000 ^e de thymol	0.50	1.38
c 1/1000 ^e id.	0.48	1.35
d 1/500 ^e id.	0.46	1.37

La dose de 1/1000^e, suffisante comme antiseptique, n'influe donc pas sur les transformations dues à l'amylase.

III

Je dois étudier maintenant l'influence de la coagulation, dans le but de déterminer si l'emploi de l'urine est préférable à celui de la diastase obtenue par le procédé Béchamp; je rechercherai ensuite la température optima, la meilleure proportion d'amidon, et, enfin, les doses d'urine les plus convenables.

1^o Influence de la coagulation par l'alcool.

M. Duclaux ⁽²⁾ a démontré que l'alcool diminue considérablement l'activité des diastases : avec la présure, il a trouvé qu'après quarante-huit heures de contact, elle n'avait plus qu'environ le dixième de son activité initiale. Il était donc probable que l'amylase de l'urine devait subir les mêmes influences :

Je traite 50 centimètres cubes d'urine par 200 centimètres cubes d'alcool à 90°; j'attends que le précipité soit bien déposé au fond du vase; je siphonne alors la plus grande partie du

(1) Dans toutes mes expériences, c'est d'amidon de blé que je me suis servi. Le maltose a été titré avec la liqueur de Fehling, selon les indications données par Soxhlet et M. Bourquelot (*loc. cit.*).

(2) Duclaux, *Microbiologie*, p. 146.

liquide surnageant, et je jette le précipité sur un filtre; je laisse égoutter (1). Je broie le filtre dans un mortier avec de l'eau distillée récemment bouillie, jusqu'à ce que j'aie rétabli le volume primitif de 50 centimètres cubes.

Je mets alors 20 centimètres cubes de ce liquide dans 100 centimètres cubes d'empois thymolisé et je porte à l'étuve (50°) pendant vingt-quatre heures. J'avais gardé dans la glace une petite fiole de la même urine dont je mets aussi 20 centimètres cubes, dans les mêmes conditions.

Maltose formé.

Liquide provenant de l'urine coagulée.....	1 g. 08
Urine non traitée.....	2 g. 60

Il y a une différence de plus de 50 0/0 en faveur de l'urine non traitée par l'alcool.

L'emploi de l'urine thymolisée est donc préférable (2) : ce liquide, qui est ordinairement clair et limpide après l'émission, n'a même pas besoin d'être filtré pour séparer le mucus. Les flocons ne nuisent pas à l'expérience, et si on filtre, au contraire, on perd une partie de l'amylase.

2° Influence de la température.

En étudiant les conditions de l'action de la diastase, j'aurai l'occasion de revenir sur l'influence de cet agent physique; j'indique seulement ici une expérience qui justifiera les températures adoptées dans la suite de ce travail.

J'expose à diverses températures indiquées plus bas une série de fioles contenant toutes la même proportion d'urine et les mêmes quantités d'empois thymolisé.

(1) Il n'y a pas d'inconvénient à ce qu'il reste un peu d'alcool; je me suis assuré par une expérience directe que ce liquide n'influe pas sur l'action de l'amylase, même à la dose de 10 0/0. Aussi est-ce au moyen de solutions alcooliques que j'ai toujours introduit le thymol : 1 centimètre cube 0/0 d'une solution à 10 0/0.

(2) L'urine a toujours été neutralisée préalablement.

L'essai des liqueurs donne :

Température.	Maltose par décilitre	
	après 2 heures.	après 4 heures.
25°.....	0 g. 46	0 g. 92
35°.....	0 g. 68	1 g. 38
45°.....	0 g. 64	1 g. 40
55°.....	0 g. 81	1 g. 82
65°.....	0 g. 75	1 g. 30
75°.....	0 g. 32	0 g. 62
85°.....	traces.	traces.

On le voit, l'amylase de l'urine se comporte à peu près comme la diastase de l'orge germée : à mesure que la température se rapproche de 60°, la proportion de sucre va en augmentant pour diminuer ensuite dès que l'on s'en éloigne.

3° Influence de la proportion d'amidon.

Après avoir fait dessécher la poudre d'amidon dans le vide, j'en mets dans [des fioles de 100 centimètres cubes les poids indiqués ci-dessous; j'ajoute ensuite une certaine quantité d'eau distillée et je chauffe au bain-marie, jusqu'à formation d'empois. Je laisse refroidir; j'ajoute partout la même quantité d'urine et je complète le volume de 100 centimètres cubes avec de l'eau thymolisée. Je porte à l'étuve (50°).

Poids d'amidon.	Maltose formé par décilitre	
	après 2 heures.	après 24 heures.
1 g.....	0 g. 34	1 g. 71
2 g.....	0 g. 33	1 g. 73
3 g.....	0 g. 34	1 g. 70
4 g.....	0 g. 32	1 g. 72
5 g.....	0 g. 36	1 g. 70
8 g.....	0 g. 30	1 g. 75
10 g.....	0 g. 37	1 g. 72

Les différences sont à peine sensibles. J'ai adopté en général la proportion de 5 0/0, parce qu'à cette dose l'empois est plus maniable étant plus fluide.

4^e *Influence de la proportion d'urine.*

Dans des fioles contenant même quantité d'empois d'amidon thymolisé j'ajoute des volumes croissants d'urine :

Voici les chiffres obtenus avec 100 centimètres cubes de liquide :

Volume d'urine par décilitre de liquide.	Maltose formé	
	après 4 heures.	après 24 heures.
1 centimètre cube	0 g. 05	0 g. 19
2 —	0 g. 09	0 g. 35
5 —	0 g. 24	0 g. 75
10 —	0 g. 44	1 g. 39
15 —	0 g. 52	1 g. 75
20 —	0 g. 80	2 g. 21

Il n'y a pas proportionnalité exacte; cependant la courbe serait bien peu infléchie, si on la construisait. C'est d'ailleurs un fait d'observation générale avec les amylases.

Dans les expériences qui suivent, j'ai adopté ordinairement la proportion de 10 centimètres cubes d'urine pour un volume total de 100 centimètres cubes de liquide. A cette dose, les transformations de l'amidon sont en effet très appréciables.

CHAPITRE II

Rôle de la diastase.

Lorsque M. Béchamp eut constaté, dans l'urine, la présence de la matière « albuminoïde-ferment »; il dut se préoccuper de sa nature. Il démontra, comme je l'ai dit plus haut, que cette nouvelle diastase provoquait des transformations comparables à celles que produit la diastase de l'orge germée. Il établit également que la *néfrozymase* était incapable d'intervertir le sucre.

Mes expériences ont pleinement confirmé les observations de M. Béchamp, et l'étude plus complète qui va suivre précisera mieux encore le rôle véritable de l'amylase de l'urine.

J'ai recherché la sucrase dans une multitude d'urines des animaux les plus variés, et jamais je n'ai remarqué sa présence, pas plus chez les carnivores que chez les herbivores.

J'ai même absorbé 200 grammes de levure de bière essorée, et mes urines, essayées pendant les deux jours qui ont suivi, n'ont pas donné trace de réduction après addition de saccharose.

Dans l'urine des herbivores, j'ai fait de nombreux essais dans le but de constater la présence d'une diastase de la cellulose, mais toutes mes expériences ont été négatives.

Quant à la pepsine, je n'ai pu en observer que des traces douteuses; il est vrai que tous mes essais ont été faits directement avec l'urine. De nombreux travaux faits surtout en Allemagne semblent établir sa présence que je ne saurais dès lors contester. Les divers physiologistes qui l'ont étudiée se sont bornés à établir sa nature et à rechercher en outre l'influence des cas

pathologiques; je citerai particulièrement : G. Mya et Belfauti ⁽¹⁾, W. Sahli ⁽²⁾, Gherig ⁽³⁾, Helwès ⁽⁴⁾ et enfin Stadelmann ⁽⁵⁾.

J'aurai l'occasion, dans le cours de ce mémoire, de rappeler certaines expériences faites surtout par Sahli et Stadelmann; elles viendront confirmer quelques-unes des conclusions que je formulerai.

L'urine contient donc au moins deux diastases : une pepsine et une amylase ⁽⁶⁾. C'est cette dernière que j'étudie seulement ici.

Je montrerai tout d'abord que la saccharification de l'amidon est bien due à une amylase; en second lieu, j'exposerai diverses recherches concernant cette saccharification; et enfin, j'établirai que la transformation de la matière féculente est poussée jusqu'au glucose.

I

L'essai qui suit prouve bien que la saccharification est due à une diastase.

Dans une fiole contenant 200 centimètres cubes d'empois thymolisé, j'ajoute 20 centimètres cubes d'urine; je porte à l'étuve (50°).

Maltose 0/0 après 24 heures..... 1 g. 92

Je partage alors le liquide en deux parties égales : une des parties est portée à 100° et la seconde conservée telle quelle; je remets à l'étuve.

Maltose 0/0 après 24 heures.

Fiole portée à 100°.....	1 g. 93
Fiole non chauffée,.....	3 g. 12

(1) G. Mya et Belfauti, *Archivio per la Scienze mediche*, t. X, 1886.

(2) W. Sahli, *Archiv. für die Gesamte Physiologie*, t. XXVI.

(3) Gherig, même recueil, t. XXXVIII.

(4) Helwès, même recueil, t. XLIV.

(5) Stadelmann, *Zeitschrift für Biologie*, t. XXV, 1888.

(6) W. Sahli a également trouvé de la trypsine, mais l'observation que j'ai faite au sujet de la pepsine se rapporte mieux encore à la trypsine.

La transformation est bien due à l'amylase, puisque la fiole dans laquelle la diastase a été détruite n'a pas donné d'augmentation.

II

A. Dans les expériences du premier chapitre, comme dans l'essai qui précède, on a pu voir que, lorsqu'on additionne l'empois d'amidon d'une certaine quantité d'urine, on observe, après un certain temps, la formation de sucre réducteur ; il y a donc saccharification évidente.

Mais les chiffres obtenus sont peu élevés, et l'on peut se faire une idée des faibles doses d'amylase contenues dans l'urine si on compare aux chiffres que donnent ordinairement des infusions de malt étendues.

Voici une expérience qui pourra donner quelques indications :

Je traite par 50 centimètres cubes d'eau distillée 10 grammes de malt fraîchement moulu ; je laisse une heure en contact et je filtre. J'ajoute ensuite les quantités ci-après du liquide dans 100 centimètres cubes d'empois thymolisé, je porte à l'étuve (50°).

Volume de la solution de malt.	Maltose formé après 24 heures.
1 goutte.....	0 g. 75
2 —	1 g. 08
5 —	2 g. 30
10 —	4 g. 05

Le maximum de sucre réducteur que j'ai pu obtenir a été de 3 g. 80 0/0 et la moyenne a été de 2 g. 05, avec 10 centimètres cubes d'urine. On voit par là, si on compare ces derniers chiffres à ceux de l'expérience ci-dessus, que l'amylase se trouve, dans l'urine, dans de faibles proportions. Elles sont suffisantes néanmoins pour que la saccharification apparaisse très nettement.

Il peut arriver quelquefois, si la dose d'amylase est encore plus faible, qu'on obtienne seulement la formation de produits dextriniformes, sans qu'il soit possible de constater la présence de sucre réducteur.

Dans quelques essais effectués avec des urines d'animaux (herbivores) contenant très peu d'amylase, j'avais remarqué que l'empois d'amidon était transformé d'une manière très sensible sans qu'il y eût formation de maltose; j'ai fait alors l'expérience suivante :

Dans cinq fioles contenant toutes la même quantité d'empois thymolisé, j'introduis des doses croissantes d'une urine préalablement dédoublée; je porte à l'étuve (50°) (1)

Volume d'urine par décilitre.	Maltose 0 0 après 12 heures.	Glucose total après sacchar.	Dextrines.
1 centimètre cube.....	0	4 g. 66	4.19
2 —	0	4 g. 88	4.39
5 —	traces	5 g. 00	4.50
10 —	0 g. 10	5 g. 10	4.42
20 —	0 g. 35	5 g. 15	4.32
20 cc. (chauffée à 100°) ...	0	traces	traces

Ainsi les composés dextriniformes étaient déjà formés, alors qu'il n'y avait pas trace de sucre réducteur.

Payen avait observé des faits semblables avec la diastase de l'orge germée, et, pour le dire en passant, l'expérience qui précède semblerait peut-être mieux en rapport avec la théorie de ce dernier savant, au sujet des transformations de l'amidon, qu'avec celle de Musculus, au moins pour les premiers stades de la réaction.

B. L'amylase de l'urine ne saccharifie pas seulement l'empois d'amidon, elle attaque aussi l'amidon cru.

O'Sullivan pensait que la diastase de l'orge germée n'attaque pas l'amidon dans son état ordinaire, mais il avait expérimenté avec de la fécule de pommes de terre qui est très difficilement attaquable. Baranetsky (2), Kjeldahl (3) et M. Brasse (4) ont montré que l'amidon de blé est transformé à 50°.

(1) Dans tous les dosages, j'avais soin de traiter les liqueurs à l'acétate de plomb et de filtrer jusqu'à limpidité parfaite, afin d'éliminer l'amidon non attaqué.

(2) Baranetsky, *Städkerbilrende Fermente*, cité par Kjeldahl.

(3) Kjeldahl, *loc. cit.*

(4) Brasse, *Action de la diastase de malt sur l'amidon cru* (Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 1885).

J'ai recherché si la diastase de l'urine jouissait de la même propriété : j'ai fait l'expérience à la température de 37°5, afin d'être plus éloigné du point thermique où l'empois se forme et pour m'assurer en même temps que l'amylase était capable de solubiliser les matières féculentes dans les conditions où elles arrivent ordinairement dans l'organisme.

Je mets 5 grammes d'amidon de blé cru dans sept fioles de 100 centimètres cubes; la première, qui servira de témoin, est additionnée simplement d'eau thymolisée.

Je porte à l'étuve (37°5).

Volume d'urine.	Maltose 0 0		
	après 1 jour.	après 2 jours.	après 3 jours.
a Témoin.....	0	0	0
b 5 cc. 0/0 urine.....	0	0 g. 16	0 g. 54
c 10 cc. 0/0 id.	0 g. 08	0 g. 25	0 g. 78
d 20 cc. 0/0 id.	0 g. 21	0 g. 69	2 g. 30
e 40 cc. 0/0 id.	0 g. 24	0 g. 80	2 g. 48
f 80 cc. 0/0 id.	0 g. 42	0 g. 90	2 g. 80

Les chiffres obtenus présentent quelques irrégularités, mais cela ne saurait surprendre : quand on opère avec l'empois d'amidon, l'amylase est disséminée dans toute la masse, tandis qu'avec l'amidon cru, une partie seulement de la diastase se trouve en contact avec la matière féculente. J'avais soin d'agiter pendant le jour, mais la nuit une très faible quantité d'amylase pouvait agir sur l'amidon. La matière transformée devait aussi former comme une barrière à l'action de la diastase; des phénomènes de diffusion devaient sans doute se produire, mais d'une manière insuffisante néanmoins.

J'ai voulu vérifier également si l'amylase de l'urine attaquait la fécule de pommes de terre crue, et j'ai fait l'essai comparativement avec l'amidon de blé, afin de pouvoir apprécier la résistance de la fécule. J'ai complété l'expérience avec la diastase de l'orge germée.

Chaque fiole contient 5 0/0 de l'amidon indiqué et 10 0/0 d'urine

ou d'extrait de malt. Dans l'appréciation du sucre réducteur formé par l'amylase de l'orge, on a tenu compte du sucre introduit avec l'extrait de malt.

	URINE. Maltose 0/0.		DIASTASE ORDINAIRE. Maltose 0/0	
	après 1 jour.	après 2 jours.	après 1 jour.	après 2 .
Amidon de blé.....	0 g. 16	0 g. 28	0 g. 26	0 g. 47
Fécule de pommes de terre.	0 g. 09	0 g. 20	0	traces

Tandis que la diastase ordinaire n'attaque que l'amidon de blé, l'amylase de l'urine transforme également bien les deux amidons.

Comme M. Brasse semble admettre que la diastase précipitée par l'alcool ne peut pas attaquer l'amidon, j'avais réservé une certaine quantité de l'urine et de l'extrait de malt de l'expérience précédente.

L'essai, fait dans les mêmes conditions, a donné, avec les diastases précipitées :

	URINE. Maltose 0/0		DIASTASE PRÉCIPITÉE. Maltose 0/0	
	1 jouf.	2 jours.	1 jour.	2 jours.
Amidon de blé.....	0 g. 09	0 g. 26	0 g. 18	0 g. 34
Fécule.....	0 g. 07	0 g. 24	0	0

Si les diastases essayées par M. Brasse n'ont pas attaqué l'amidon cru, c'est qu'elles étaient sans doute trop affaiblies.

C. On admet communément, d'après les indications de Musculus, qu'il existe des dextrines inattaquables par la diastase de l'orge germée. Il était intéressant de vérifier si l'amylase de l'urine est dans le même cas; pour cela, j'ai fait l'expérience qui suit, en complétant l'essai par l'étude de la diastase ordinaire.

Dans deux fioles, j'introduis de l'empois d'amidon thymolisé en quantités à peu près égales; j'ajoute à l'une (a) 400 centimètres cubes d'urine et à l'autre (b) même volume d'extrait de malt. Je complète le volume d'un litre et je porte à l'étuve (50°).

Des dosages successifs faits après deux, quatre et huit jours, ont montré que la transformation, très active au début, se pour-

suit ensuite avec lenteur. Voici, à titre d'indication, les chiffres observés au dixième jour de l'expérience :

	Maltose 0/0.	Dextrines.
	—	—
<i>a</i>	4 g. 47	1 g. 69
<i>b</i>	5 g. 66	1 g. 30

Le sucre total calculé en glucose, après la saccharification sulfurique, avait donné pour (*a*) 6 g. 88, et pour (*b*) 7 g. 10; les poids des dextrines ont été déduits de ces derniers chiffres.

Comme un nouvel essai fait cinq jours plus tard n'accusait pas une diminution des dextrines, j'ai introduit alors, dans chaque fiole, une certaine quantité de la diastase correspondante, obtenue par précipitation, de manière à ne pas diluer les liqueurs, et j'ai répété la même addition, cinq jours après.

L'essai des liquides fait le surlendemain donne :

	Maltose 0/0.
	—
<i>a</i>	7 g. 77
<i>b</i>	6 g. 62

Si l'on compare ces derniers chiffres avec les quantités de sucre réducteur total trouvées après la saccharification sulfurique, on peut voir que la transformation est à peu près complète ⁽¹⁾.

Il existe d'ailleurs un moyen de contrôler si les dextrines ont totalement disparu : il suffira d'ajouter aux liqueurs une levure pure éprouvée déjà comme n'étant pas susceptible de faire fermenter ces hydrates de carbone.

Pour obtenir ce résultat, je chasse le thymol par l'acétate de plomb, je me débarrasse ensuite de l'excès de métal, au moyen de l'hydrogène sulfuré, que je fais disparaître, à son tour, par un courant d'air stérilisé, jusqu'à ce que les liqueurs ne précipitent plus, par un sel de plomb.

J'ajoute alors une certaine quantité d'eau de levure, afin de

(1) Le nombre 7 g. 77 obtenu en *a* est supérieur à celui de 6 g. 83, à cause du mélange des deux sucres formés : maltose et glucose, sous l'influence de l'amylase de l'urine.

rendre le milieu nutritif, je verse dans des matras Pasteur, et je porte à l'ébullition, pour stériliser.

J'ensemence, après refroidissement, avec la levure pure, et quand la fermentation paraît terminée, je fais l'essai des liquides.

	Rotation en degrés saccharimétriques	
	avant la fermentation.	après la fermentation.
<i>a</i>	+ 69	+ 0.5
<i>b</i>	+ 83	+ 0

Tous les hydrates de carbone ont donc disparu, et, par suite, les achroodextrines de *Musculus* ne sont pas inattaquables par l'amylase de l'urine, ni d'ailleurs par la diastase ordinaire.

Pour bien démontrer que la transformation est due aux amylases, après les dix premiers jours de l'expérience, c'est-à-dire avant la seconde addition de diastase, j'avais réservé un certain volume de chacune des liqueurs.

Les dosages effectués à ce moment avaient donné les chiffres reproduits en haut de la page 22.

Les liquides, portés à 100°, furent ensuite mis à l'étuve, à côté des autres fioles. Traités plus tard comme ceux des fioles non chauffées, c'est-à-dire débarrassés du thymol et ensemencés avec la levure dont j'ai parlé, ils ont fourni les résultats suivants :

	Rotation en degrés saccharimétriques	
	avant fermentation.	après fermentation.
<i>a</i>	+ 86.25	+ 28.30
<i>b</i>	+ 94.08	+ 18.75

Les rotations ne correspondent pas aux quantités de sucre réducteur et de dextrines à cause de l'addition de l'eau de levure ; mais l'influence de la diastase apparaît bien nettement, puisque les dextrines existent encore dans les liqueurs où elle a été détruite. L'expérience montre en outre que la levure employée n'a pu faire fermenter ces hydrates de carbone.

Nous avons déjà montré, M. Gayon et moi ⁽¹⁾, que les produits dextriniformes du moût de bière, jusque-là réputés non ferment-

(1) Gayon et Dubourg, *De la Fermentation alcoolique de la dextrine et de l'amidon par les mucors* (Annales de l'Institut Pasteur, 1887).

tescibles, disparaissaient dans la fermentation par les *mucors*; il n'est pas nécessaire d'attribuer à ces moisissures une fonction spéciale, l'amylase ordinaire, aidée d'une levure pure, pouvant produire le même phénomène.

III

Il me reste enfin à montrer que l'amylase de l'urine pousse l'hydratation de l'amidon jusqu'au glucose. On doit distinguer en effet les amylases qui transforment l'empois d'amidon en dextrines et maltose et celles qui font des dextrines et du glucose. La diastase de l'orge germée ne fait que du maltose⁽¹⁾, mais il en est d'autres, et ce sont les plus nombreuses, qui poussent l'hydratation jusqu'au glucose. Je citerai les amylases sécrétées par l'*Aspergillus glaucus*, le *Penicillium glaucum*, l'*Eurotium orizæ*.

L'étude des transformations ultimes de l'amidon ne peut être faite avec l'empois, nous en avons exposé les diverses raisons, M. Gayon et moi, dans notre mémoire sur la fermentation de la dextrine; c'est avec des solutions de maltose pur qu'on doit expérimenter.

Dans un premier paragraphe, j'étudierai l'hydratation du maltose, réservant pour une deuxième partie quelques recherches entreprises dans le but de fournir l'explication de certains faits particuliers.

1^o J'emploierai, dans cette étude, les méthodes adoptées par M. Bourquelot⁽²⁾ et par M. Gayon et moi⁽³⁾.

Première expérience. — Dans trois fioles, je mets 50 centi-

(1) De Mering pense que la diastase de l'orge germée fait du glucose à la longue. M. Bourquelot n'a pas obtenu d'hydratation du maltose après 24 heures. Dans une expérience qui a duré 20 jours, je n'ai pas eu trace de transformation du maltose. M. Effront a constaté plus récemment la présence du glucose dans une liqueur additionnée d'extrait de malt *trouble*. Si cet expérimentateur avait examiné ses liquides au microscope, il les aurait vus peuplés de microbes divers et aurait eu l'explication de cette apparente anomalie.

(2) E. Bourquelot, *loc. cit.*

(3) Gayon et Dubourg, *loc. cit.*

mètres cubes de la même solution de maltose (1) : la première (a) contient un égal volume d'urine thymolisée, la seconde (b) contient la même quantité d'urine préalablement chauffée à 100°, la troisième enfin (c) est additionnée d'eau thymolisée.

J'observe après trois jours d'étuve.

	Rotation en degrés saccharimétriques.	Volume de liqueur dédoublée pour décolorer 10 cc. de liqueur de Fehling.
a	+ 7.8	12 cc. 5
b	+ 14.2	14 cc. 4
c	+ 14.2	14 cc. 3

La diminution de la rotation et l'augmentation correspondante du pouvoir réducteur dans la fiole (a) seule prouvent qu'il y a bien hydratation du maltose. La transformation est due à l'amyrase, car les deux témoins n'ont subi aucune modification.

Deuxième expérience. — Ici les volumes d'urine sont les mêmes, mais les proportions de maltose sont plus élevées et l'essai a duré plus longtemps.

Les lettres correspondent à des liqueurs respectivement semblables à celles de l'expérience précédente.

Une première observation faite après cinq jours a donné :

	Rotation en degrés saccharimétriques.	Volume de liqueur dédoublée pour décolorer 10 cc. de liqueur de Fehling.
a	+ 36.0	4.1
b	+ 42.0	5.0
c	+ 42.0	5.1

Après dix jours :

a	+ 33.0	3.8
b	+ 42.25	5.0
c	+ 42.0	5.1

Comme on le voit, les transformations sont faibles. Si on calcule la proportion de maltose hydraté, on trouve sensiblement 1 g. 30 dans une liqueur en contenant 3 grammes au début de l'expérience, soit 50 0/0 environ du maltose employé.

(1) J'ai toujours eu soin de préparer les dissolutions de maltose, la veille, à cause des phénomènes de birotation:

Si l'on précipite un certain volume d'urine au moyen de l'alcool et qu'on verse la diastase ainsi coagulée dans une solution de maltose de faible volume, on pourra obtenir des résultats plus sensibles. J'ai pu de la sorte, avec l'amylase provenant de 200 centimètres cubes d'urine, transformer en vingt-quatre heures 3 g. 54 de maltose dissous dans 50 centimètres cubes d'eau thymolisée.

2° Les faibles quantités de maltose hydraté obtenues dans les expériences qui précèdent peuvent s'expliquer par la dilution de l'amylase, qui, on l'a vu, se trouve à doses très faibles dans l'urine; mais il est d'autres facteurs qui interviennent dans la marche du phénomène.

A. L'action des amylases s'exerce avec d'autant moins d'activité que le produit essayé se rapproche davantage du terme de la réaction. Musculus pensait même que les dernières achroodextrines sont inattaquables.

L'expérience suivante, faite avec l'urine, indique bien ces différences.

J'additionne d'un même volume d'urine : 1° 100 centimètres cubes d'empois d'amidon thymolisé, et 2° la même quantité d'une solution de dextrine pure dépourvue de sucre réducteur; je porte à l'étuve (50°) et j'examine les deux liqueurs après vingt-quatre heures.

	Maltose formé.
Empois d'amidon.....	1 g. 92
Solution de dextrine.....	0 g. 36

L'amylase, en présence de l'empois d'amidon, a formé près de six fois autant de sucre réducteur que la même quantité de diastase en contact avec la solution de dextrine. Ce dernier produit offre une résistance plus grande à l'amylase; et, puisque le maltose est un composé se rapprochant encore davantage du terme de la réaction, on ne saurait être surpris de la plus grande difficulté qu'on éprouve à le transformer, même quand on le met en présence de quantités relativement notables d'amylase, comme on l'a vu page 25.

Peut-être les nombreux traitements à l'alcool auxquels on est obligé de soumettre les dextrines comme le maltose, afin de les obtenir à l'état de pureté, sont-ils de nature à rendre la molécule de ces corps plus résistante. On a démontré depuis longtemps que les matières albuminoïdes traitées par l'alcool deviennent en partie insolubles, mais il serait sans doute prématuré de vouloir établir une comparaison entre ces derniers corps, d'une nature spéciale, et les hydrates de carbone plus haut cités.

B. On sait que les produits des transformations dues aux diastases sont une cause de gêne pour l'action ultérieure de ces diastases. M. Duclaux ⁽¹⁾ a montré, pour la sucrase, qu'il en est bien ainsi. Divers expérimentateurs ont contesté ces conclusions, mais M. Lindet ⁽²⁾ a prouvé récemment que, dans la saccharification par la diastase de l'orge germée, on peut observer les mêmes résultats.

Si j'ai pu transformer complètement l'empois d'amidon en sucre réducteur, on a vu que l'action se poursuit avec une très grande lenteur; cependant si on élimine le sucre à mesure de sa production, la transformation est complète après un temps très court.

Voici l'expérience que j'ai faite avec l'amylase de l'urine, qui vient ainsi confirmer les résultats déjà connus pour l'amylase de l'orge.

Je prépare de l'empois d'amidon avec de l'eau de levure dans deux matras Pasteur, je porte à l'ébullition pour stériliser. Les volumes sont les mêmes. Après refroidissement, j'ajoute dans chaque fiole même proportion de la diastase de l'urine préalablement précipitée. Je porte à l'étuve (37°5).

L'essai des liqueurs fait après quinze heures a donné :

	Maltose 0/0.	Dextrines 0/0.
	—	—
Fiole n° 1	3 g. 03	3 g. 11
Fiole n° 2	2 g. 98	2 g. 87

⁽¹⁾ Duclaux, *Microbiologie*, p. 465.

⁽²⁾ Lindet, *Observations sur la saccharification par la diastase* (*Comptes rendus*, mars 1889).

Je verse alors dans la fiole n° 1 de la levure pure ⁽¹⁾, et je remets les deux matras à l'étuve.

	Après 1 jour.		Après 2 jours.		Après 3 jours.	
	Maltose 0/0.	Dextrines.	Maltose 0/0.	Dextrines.	Maltose 0/0.	Dextrines.
Fiole n° 1.	traces	2.41	traces	0.11	traces	traces
Fiole n° 2.	3 g. 15	2.79	3.20	2.75	3.24	2.73

Tout l'amidon a été transformé en sucre fermentescible, après trois jours, dans la fiole n° 1, tandis que le liquide n° 2, essayé de nouveau huit jours après, contient encore 2 g. 57 de dextrines.

On a objecté que la levure pouvait jouer un rôle dans le phénomène, mais les expériences de M. Lindet sont venues démontrer le contraire : il a obtenu des résultats semblables, en séparant le maltose formé au moyen de la phénylhydrazine.

Les produits de la réaction sont donc une cause de gêne pour les diastases, ou tout au moins pour les amylases et la sucrase.

Il faudrait ajouter encore comme susceptible d'affaiblir l'action des amylases l'influence des agents physiques; je citerai en particulier l'air et la lumière.

Dans l'organisme, les diastases sont soustraites à toutes ces influences nocives; c'est toujours de la diastase fraîchement sécrétée qui agit; les produits de la réaction sont éliminés, à mesure de leur production; en un mot, les conditions sont telles que les transformations doivent atteindre leur maximum.

Se basant sans doute sur les faibles quantités de maltose hydraté que M. Bourquelot avait obtenues dans ses expériences, M. Dastre semble admettre que les amylases de l'organisme ne font que du maltose; sans que les expériences qui précèdent soient de nature à résoudre complètement le problème, elles semblent donner des indications nouvelles, en rappelant quelques-unes des causes principales susceptibles d'enrayer la transformation de ce sucre, quand on expérimente *in vitro*.

(1) C'est la même levure qui avait servi dans l'expérience de la page 128.

CHAPITRE III

Conditions physico-chimiques et physiologiques de l'action de la diastase.

L'étude des agents physiques qui interviennent pour activer ou altérer les transformations provoquées par les diastases a donné lieu à un nombre considérable de travaux; mais il n'en est plus de même des influences chimiques. La littérature en est limitée aux recherches de M. Duclaux ⁽¹⁾, de M. Petit ⁽²⁾, de Kjeldahl ⁽³⁾ et de Stadelmann ⁽⁴⁾.

Quant aux conditions physiologiques de l'action des diastases, M. Duclaux seul, en précisant le mécanisme de leur sécrétion, est parvenu à montrer la part considérable due à l'aliment dans les variations de ces composés.

Les expériences qui vont suivre m'ont fourni l'occasion de vérifier bien des faits déjà connus; j'ai ajouté quelques observations nouvelles, qui trouveront place, tout naturellement, dans ce chapitre.

I

Conditions physiques.

Le rôle des principaux agents physiques a été déjà implicitement étudié dans le premier chapitre; je n'aurai donc à y revenir que pour exposer quelques résultats complémentaires.

Action du temps. — Je rapporte ici une expérience dans laquelle on a dosé non seulement le sucre réducteur, mais aussi les dex-

(¹) Duclaux, *Mémoire sur le lait* (*Annales de l'Institut agronomique*, 1882). *Microbiologie*, p. 164-179. — *Annales de l'Institut Pasteur*, nov. 1888, p. 613.

(²) Petit, *Recherches sur la pepsine*, Paris, 1890.

(³) Kjeldahl, *loc. cit.*

(⁴) Stadelmann, *loc. cit.*

trines. Cet essai démontrera que la saccharification se fait dans des conditions comparables à celles qu'on a pu remarquer avec la dilution de l'amylase, page 19.

Je mets dans quatre fioles de 100 centimètres cubes de l'empois d'amidon à 10 0/0 thymolisé, et j'ajoute des doses croissantes d'urine. Je porte à l'étuve (50°).

Volume d'urine.	Après 4 heures d'étuve.		Après 8 heures d'étuve.	
	Maltose 0/0.	Dextrines 0/0.	Maltose 0/0.	Dextrines 0/0.
1 cc.	traces	3.90	0.16	5.95
2 cc.	0.06	4.16	0.30	7.00
4 cc.	0.30	5.20	0.60	7.80
8 cc.	0.54	6.25	1.24	8.65

On a donc ici encore une transformation presque totale de l'empois en produits solubles, alors qu'il n'existe que des traces de sucre réducteur formé.

Action de la température. — Si l'on répète l'expérience précédente soit à 65°, soit en employant une diastase préalablement exposée à cette température, on obtient des résultats qui se rapprochent beaucoup de ceux que je viens d'indiquer.

L'étude plus attentive des influences thermiques m'a permis d'observer en outre une particularité intéressante.

Si l'on expose une urine thymolisée, et je puis ajouter une solution d'extrait de malt ⁽¹⁾, à une température de 50°, pendant un certain temps; si les liquides, mélangés ensuite avec de l'empois d'amidon, sont rapportés à l'étuve, on trouvera des différences notables dans l'activité de la diastase, comparativement à une même solution n'ayant pas été soumise à l'influence thermique.

Voici un essai très concluant :

Je prends une certaine quantité d'urine à laquelle j'ajoute un millième de thymol, je la divise en quatre parties égales que je distribue dans quatre fioles de même capacité.

Une fiole est placée à 10°, la seconde à 37°5, la troisième à 50°, la quatrième à 60°.

(1) L'expérience ne permettra évidemment de conclure qu'en ce qui regarde l'amylase de l'urine et celle de l'orge germée que j'ai essayée également; mais il est probable que toutes les autres amylases doivent subir la même influence.

Après quarante-huit heures, je prends 10 centimètres cubes de l'urine de chacune des fioles, que je mélange avec 100 centimètres cubes d'empois d'amidon thymolisé. Je porte à l'étuve à 50°.

Maltose 0/0 après 24 heures.

Fiole de l'urine à 10°.....	1 g. 16
Id. à 37°5.....	1 g. 13
Id. à 50°.....	0 g. 58
Id. à 60°.....	0 g. 27

L'expérience, répétée avec la même urine après cinq jours, donne :

Fiole de l'urine à 10°.....	1 g. 12
Id. à 37°5.....	1 g. 15
Id. à 50°.....	0 g. 29
Id. à 60°.....	traces

Mais on pouvait faire une objection à l'essai qui précède et se demander si le thymol, même à la dose de 1/1000°, n'était pas de nature à modifier les résultats, en agissant d'une manière spéciale, à mesure que la température s'élevait. Dans le but d'éloigner cette cause d'erreur, si elle avait existé, j'ai préparé de l'urine pure, en la stérilisant au moyen d'un filtre Chamberland; je l'ai distribuée dans des matras Pasteur flambés avec toutes les précautions nécessaires, et j'ai repris l'expérience précédente avec cette urine, après m'être assuré qu'elle était restée pure de tout microbe. Je n'ai essayé ici que la température de 10° et celle de 50°.

Voici les chiffres obtenus après vingt-quatre heures d'étuve :

Maltose 0 0.		Maltose 0, 0.	
Fiole à 10° depuis 48 heures.	1 g. 76	Fiole à 10° depuis 3 jours.	1 g. 68
Fiole à 50° id. .	0 g. 63	Fiole à 50° id. .	0 g. 23

Si les produits de transformation de l'amidon par les amylases n'augmentent que lentement, lorsque l'expérience se prolonge, *un des facteurs* qui concourent à ce ralentissement est sans nul doute la température, même à la température considérée ordinairement comme la meilleure.

M. Kjeldahl a longuement étudié la marche de la saccharification à des températures diverses, mais il était obligé de chauffer l'extrait de malt à 65° pour observer un affaiblissement sensible; cela

provient sans nul doute du peu de durée de ses essais, qui ne dépassaient pas 120 minutes.

J'ajouterai que le retard apporté à la saccharification dans l'expérience qui précède est exclusivement imputable à la température, à l'exclusion de l'oxygène de l'air. La même urine qui m'a servi à subi pendant 5 jours l'action d'un puissant courant d'air pur, à l'aide d'une trompe, à la température ordinaire; cette urine, mise ensuite en contact avec l'empois d'amidon, m'a donné sensiblement les mêmes chiffres de sucre réducteur que l'urine provenant d'une fiole complètement remplie. Cela ne saurait surprendre, car, on le sait, l'oxygène de l'air affaiblit surtout les solutions alcalines de diastase, et mon urine *acide* était neutralisée seulement au moment de la mise en contact avec l'empois d'amidon.

II

Conditions chimiques.

Dans tous les essais qui vont suivre, j'ai rapporté les quantités de sucre réducteur formé à celles que donnait un témoin placé chaque fois dans les mêmes conditions, en adoptant le chiffre 10 comme coefficient du témoin. Si un composé chimique est suivi du chiffre 5, par exemple, cela voudra dire que si le témoin a donné 10 0/0 de sucre réducteur, toutes choses égales d'ailleurs, une fiole additionnée du composé chimique, dans la proportion indiquée, a donné seulement 5 0/0.

Action des acides. — J'ai essayé à peu près tous les acides minéraux et organiques; à l'exception de l'acide arsénieux et de l'acide borique, ils ont tous entravé complètement l'action de la diastase à la dose de 1/1000^e.

Action des alcalis. — Les alcalis ont tous donné le même résultat que les acides.

Action des sels. — Je donne tout d'abord la liste des sels qui, à la dose de 1/100^e, n'ont pas enrayé l'action de l'amylase: ils ont fourni la même quantité de sucre réducteur que le témoin, toutes choses égales d'ailleurs. Je citerai ensuite les sels qui ont montré une action retardatrice, avec leurs coefficients.

SELS QUI N'ONT PAS D'ACTION A 1/100^e.

Chlorure de sodium.	Émétique.
Chlorure de calcium.	Lactate de chaux.
Chlorure de potassium.	Phosphate de soude.
Chlorhydrate d'ammoniaque.	Phosphate de potasse.
Sulfate de soude.	Phosphate d'ammoniaque.
Sulfate de magnésie.	Tartrate de soude.
Sulfate ferrique.	Tartrate de potasse.
Sulfate d'ammoniaque.	Tartrate d'ammoniaque.
Hyposulfite de soude.	Sel Seignette.
Iodure de potassium.	

SELS QUI RETARDENT A 1/100^e.

Oxalate d'ammoniaque..	7.0	Sulfite de soude.....	8.5
Oxalate de potasse.....	7.6	Bicarbonate de soude....	8.1
Nitrate de potasse.....	5.8	Carbonate de soude.....	0.5
Acétate de potasse.....	4.7	Carbonate de potasse....	0.5
Chlorate de potasse.....	8.1	Carbonate d'ammoniaque	1.7
Borate de soude.....	6.1	Salicylate de soude.....	0.8
Biliodure de mercure....	4.3	Salicylate d'ammoniaque.	1.3
Bisulfite de soude.....	1.8		

SELS QUI RETARDENT COMPLÈTEMENT A 1/100^e.

Sulfate de zinc.	Sous-acétate de plomb.
Acétate de zinc.	Crème de tartre soluble.
Chlorure de zinc.	Les trois aluns.
Sulfate ferreux.	Acétate mercurieux.
Sulfate de cuivre.	Oxalate acide de potasse.
Acétate de plomb.	

Je laisse de côté le sublimé, dont je m'occuperai plus loin.

Action des alcaloïdes. — J'ai fait toutes les expériences avec les alcaloïdes à la dose de 1/1000^e.

ALCALOÏDES SANS ACTION RETARDATRICE A 1/1000^e.

Morphine.	Thébaïne.	Caféine.	Digitaline.	Cubébine.
Vératrine.	Papavérine.	Narcotine.	Santonine.	Nicotine.

Les alcaloïdes suivants retardent, mais faiblement :

Cinchonine.....	8.4	Sulfate de quinine.....	8.3
Codéine.....	6.9	Atropine.....	7.9
Aconitine.....	7.8	Strychnine.....	8.2
Picrotoxine.....	4.7		

Tous ces composés ont été introduits, en solutions alcooliques, dans l'empois d'amidon.

Action des alcools et des aldéhydes. — Les essais suivants ont été faits à la dose de 1/100^e :

Alcool méthylique.....	7.7	Alcool allylique.....	7.6
Alcool éthylique.....	10.0	Glycol.....	6.6
Alcool propylique.....	8.8	Glycérine.....	10.0
Alcool iso —.....	10.0	Phénol.....	7.4
Alcool butylique.....	8.6	Aldéhyde.....	0
Alcool amylique.....	8.4	Acétone.....	4.8

L'aldéhyde n'ayant pas donné de réduction, j'ai repris l'expérience à doses diverses; voici les coefficients obtenus :

A la dose de 1/100 ^e	0
— 1/200 ^e	7.1
— 1/350 ^e	8.2
— 1/500 ^e	8.9
— 1/1000 ^e	10.0

Action des essences. — A la dose de 1/100^e, les essences n'ont pas enrayé l'action de l'amylase; il faut excepter toutefois l'essence d'amandes amères et les essences de cannelle. Ce dernier fait concorde avec les expériences de M. Chamberland, dans lesquelles il a établi que l'essence de cannelle était un excellent antiseptique.

Action du sublimé. — En essayant les composés acides et certains antiseptiques, j'avais eu l'occasion de remarquer que, si quelquefois les liqueurs ne contenaient pas de sucre réducteur, il y avait eu cependant fluidification de l'amidon. Le sublimé étant le plus énergique des antiseptiques connus, j'en ai fait une étude plus complète, que je transcris ci-après.

Je prépare des fioles d'empois dans lesquelles j'introduis le même volume d'urine et des doses croissantes de l'antiseptique. Après vingt-quatre heures d'étuve (50°), j'obtiens :

Proportion de sublimé.	Maltose 0/0.	Dextrines 0/0.
1/4000 ^e	0 g. 31	4 g. 22
1/3500 ^e	0 g. 20	3 g. 26
1/3000 ^e	0 g. 11	2 g. 39
1/2500 ^e	0 g. 05	1 g. 50
1/2000 ^e	traces	0 g. 86
1/1500 ^e	0	traces
1/1000 ^e	0	0

On pourra juger de l'influence de ce corps, si je dis que le témoin a donné 2 g. 20 de maltose 0/0.

Si on soumet préalablement l'urine à l'influence du sublimé pendant un, deux ou trois jours, on arrive aux mêmes résultats,

Cette expérience est à rapprocher de celles de la page 19 et de la page 30.

On voit ainsi que la dilution, le temps, la température, les antiseptiques, produisent des phénomènes de même ordre.

Si les différences entre les proportions de dextrines et celles du sucre réducteur sont moins sensibles avec le sublimé qu'avec l'amylase diluée, cela s'explique aisément par l'action retardatrice énergique de cet antiseptique.

On remarque, en outre, qu'il y a bien deux actions séparées : l'une portant sur la formation des dextrines, l'autre sur la formation du sucre réducteur. Comme je l'ai dit plus haut, ces observations tendraient bien à faire admettre, avec Payen et Schwarzer, la formation première de la dextrine, puis l'hydratation de cette dernière, et non pas une série de dédoublements successifs avec hydratation simultanée, comme le disait Musculus.

III

Conditions physiologiques.

C'est au moyen de son procédé de dosage que M. Béchamp suivait les variations de la *néfrozymase*. Pour les raisons déjà données, je n'ai pas suivi la même méthode : c'est toujours en calculant le sucre réducteur obtenu, toutes choses égales d'ailleurs, que j'ai établi les résultats ci-après.

Quand on étudie les conditions physiologiques de l'action d'une diastase de l'organisme, il intervient un grand nombre de faits contingents qui peuvent enlever aux expériences quelque peu de leur rigueur. Je citerai, par exemple, le tempérament de chaque individu, sa profession, le régime alimentaire auquel il est soumis.

En outre, c'est avec l'urine des vingt-quatre heures qu'il eût

fallu expérimenter pour avoir des résultats plus précis; mais ceci était en dehors du cadre de mon travail actuel. Par suite, les observations recueillies, concernant l'influence de l'âge et du sexe, ne sauraient avoir qu'une valeur relative.

Je me suis toujours procuré le plus grand volume d'urine possible; j'en ai prélevé 10 centimètres cubes, que j'ai mélangés avec 100 centimètres cubes d'empois thymolisé. L'essai des liqueurs a été fait, après vingt-quatre heures d'étuve, à 50°.

1° INFLUENCE DE L'ÂGE ET DU SEXE.

Maltose O/O.	Hommes		Femmes		Enfants	
	Adultes.	Vieillards.	Adultes	Vieillards.	Au-dessous de 10 ans.	De 10 à 20 ans.
Maximum.	2 g. 12	3 g. 80	1 g. 15	1 g. 98	1 g. 28	1 g. 96
Minimum.	1 g. 04	1 g. 03	0 g. 40	0 g. 51	0 g. 10	0 g. 31
Moyenne..	1 g. 68 ⁽¹⁾	2 g. 05 ⁽²⁾	0 g. 98 ⁽³⁾	1 g. 20 ⁽⁴⁾	0 g. 84 ⁽⁵⁾	0 g. 88 ⁽⁶⁾

Les indications données par ce tableau montrent que l'amyase est en proportions plus considérables dans l'urine des hommes que dans celle des femmes et des enfants; en outre, on voit que les vieillards éliminent plus de diastase que les adultes.

2° INFLUENCE DE L'ALIMENTATION.

A. Mes premiers essais ont porté sur des animaux soumis d'ordinaire à un régime à peu près constant.

Chiens. — L'urine de tous les animaux mis en expérience n'a donné que des traces de sucre réducteur. Je m'étais assuré, il est vrai, que la viande était leur nourriture à peu près exclusive.

Herbivores. — J'ai fait de très nombreux essais avec des urines

(1) Moyenne de 56 essais.

(2) Moyenne de 28 essais.

(3) Moyenne de 18 essais.

(4) Moyenne de 11 essais.

(5) Moyenne de 24 essais.

(6) Moyenne de 35 essais.

Avec l'urine d'un enfant de 15 jours, je n'ai obtenu que des traces de sucre réducteur après 24 heures.

de bœuf, de veau, de mouton et je n'ai ordinairement obtenu que fort peu de maltose, quelquefois même j'ai constaté seulement la présence de produits dextriniformes, comme je l'ai déjà dit.

Porcs. — Avec l'urine de ces animaux, j'ai toujours constaté une réduction considérable.

B. Lapins. — Les expériences ont été plus précises avec ces animaux. Voici un essai comparatif des alimentations purement végétales (herbacées) et amylacées; j'ai complété l'observation en soumettant l'animal au régime lacté.

Je mets un lapin en cage, de façon à pouvoir recueillir toute son urine sans qu'elle soit souillée par les matières fécales.

Dès le premier jour, l'animal est soumis à un régime exclusivement végétal (choux); mais je rejette l'urine des premières vingt-quatre heures : la nourriture variée qu'on donnait précédemment à l'animal étant de nature à modifier quelque peu les résultats.

Voici le tableau indiquant les chiffres obtenus dans cette expérience :

	RÉGIME.	URINE des 24 heures en cent. cubes.	URÉE PAR LITRE.	URÉE des 24 heures.	MALTOSE avec 10 cc. d'urine dans 100 cc. empois.	MALTOSE TOTAL dans les mêmes conditions.
1 ^{er} jour.	Végétal (choux).	275	2 g. 0	0 g. 55	0 g. 44	12 g. 10
2 ^e jour.	Id. ..	330	1 g. 5	0 g. 49	0 g. 26	8 g. 38
3 ^e jour.	Id. ..	520	0 g. 5	0 g. 26	0 g. 33	11 g. 96
4 ^e jour.	Amylacé (avoine)	140	16 g. 0	2 g. 24	2 g. 38	33 g. 30
5 ^e jour.	Id. ..	165	20 g. 0	3 g. 30	2 g. 44	40 g. 20
6 ^e jour.	Id. ..	160	18 g. 0	2 g. 88	2 g. 50	40 g. 00
7 ^e jour.	Lacté.....	170	14 g. 0	2 g. 38	1 g. 00	17 g. 00
8 ^e jour.	Id. ..	170	7 g. 6	1 g. 19	0 g. 66	11 g. 22
9 ^e jour.	Id. ..	160	6 g. 0	0 g. 96	0 g. 69	11 g. 10
10 ^e jour.	Végétal.....	180	9 g. 5	1 g. 71	0 g. 24	4 g. 32
11 ^e jour.	Amylacé.....	154	14 g. 0	2 g. 16	2 g. 02	31 g. 10

La moyenne de sucre réducteur obtenu est de 10 g. 81 avec le régime herbacé, de 37 g. 83 avec le régime amylacé et de 13 g. 10 avec le régime lacté.

L'amyase a donc augmenté avec le régime amylacé et diminué considérablement sous l'influence des alimentations végétale et lactée.

Un lapin soumis à une alimentation végétale pendant dix jours a donné seulement 1 g. 38 0/0 de sucre réducteur pour l'urine totale de vingt-quatre heures.

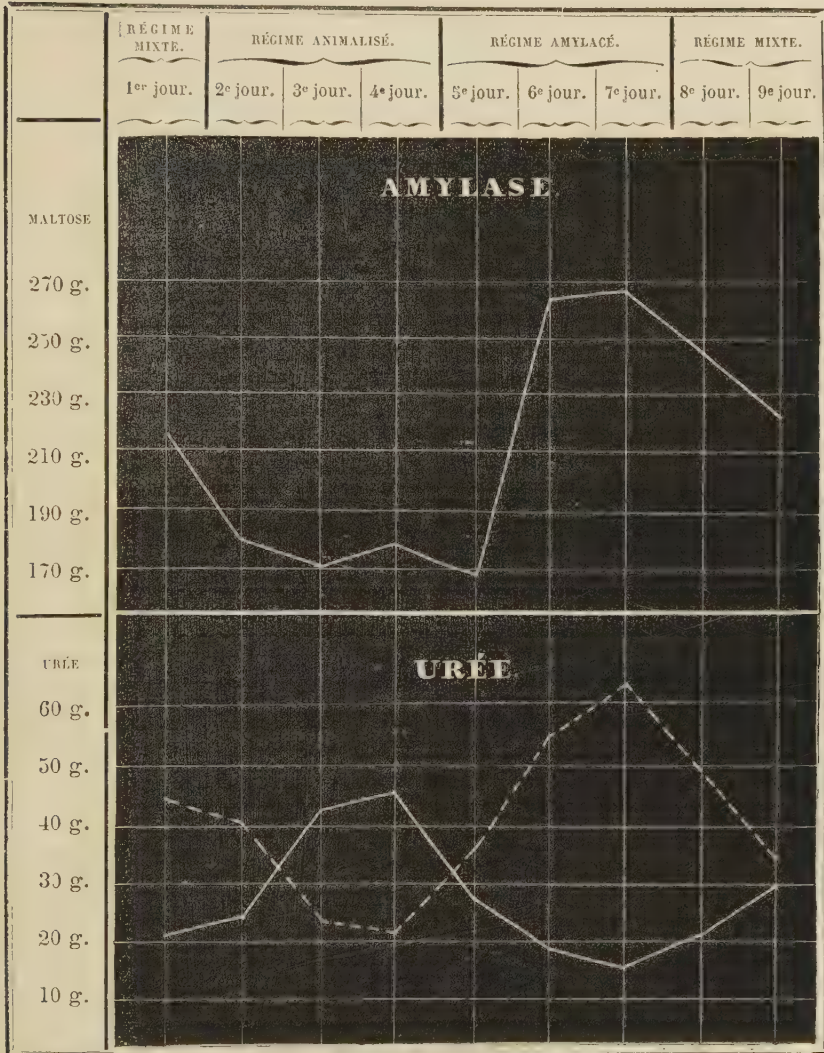
C. M. Béchamp avait observé que l'alimentation animalisée provoquait une hypersécrétion de la diastase. Comme cette conclusion me semblait *a priori* en contradiction avec mes premières recherches, j'ai fait une expérience sur moi-même, mais en me soumettant au régime indiqué d'une manière très rigoureuse; j'ai supprimé le pain pendant les trois jours qu'a duré le régime animalisé. Comme comparaison, j'ai poursuivi l'essai avec l'alimentation amylacée *exclusive*.

	RÉGIME.	URINE des 24 heures en cent. cubes.	URÉE PAR LITRE.	URÉE des 24 heures.	MALTOSE pour 10 cc. d'urine dans 100 cc. empois.	MALTOSE TOTAL dans les mêmes conditions.
1 ^{er} jour.	Mixte.....	975	22 g. 0	21 g. 45	2 g. 20	214 g. 50
2 ^e jour.	Animalisé..	1350	18 g. 0	24 g. 30	1 g. 33	179 g. 55
3 ^e jour.	Id. ..	1420	30 g. 0	42 g. 60	1 g. 26	170 g. 10
4 ^e jour.	Id. ..	1860	24 g. 5	45 g. 57	0 g. 96	178 g. 56
5 ^e jour.	Amylacé....	1270	21 g. 5	27 g. 30	1 g. 33	168 g. 90
6 ^e jour.	Id. ..	1180	16 g. 0	18 g. 88	2 g. 24	264 g. 32
7 ^e jour.	Id. ..	1170	13 g. 5	15 g. 79	2 g. 28	266 g. 76
8 ^e jour.	Mixte.....	1750	12 g. 0	21 g. 00	1 g. 40	245 g. 00
9 ^e jour.	Id. ..	1430	20 g. 5	29 g. 32	1 g. 53	220 g. 79

Contrairement à l'opinion de M. Béchamp, le régime amylacé a provoqué une hypersécrétion notable d'amyase, puisque la moyenne du sucre réducteur formé par l'urine de ce régime est de 233 grammes, alors que celle du régime animalisé est seulement de 175 grammes; et l'on peut remarquer, en outre, que l'influence du régime peut se faire sentir encore vingt-quatre heures après qu'on l'a cessé.

Si l'on traduit par une courbe les variations obtenues, on se rend mieux compte de l'expérience. J'ai placé en dessous la courbe de l'urée, afin de bien démontrer les différences observées dans l'excrétion des deux composés.

Et pour mieux comparer les variations de l'urée à celles de l'amylase, j'ai figuré, par une courbe ponctuée, les inverses des proportions d'urée.



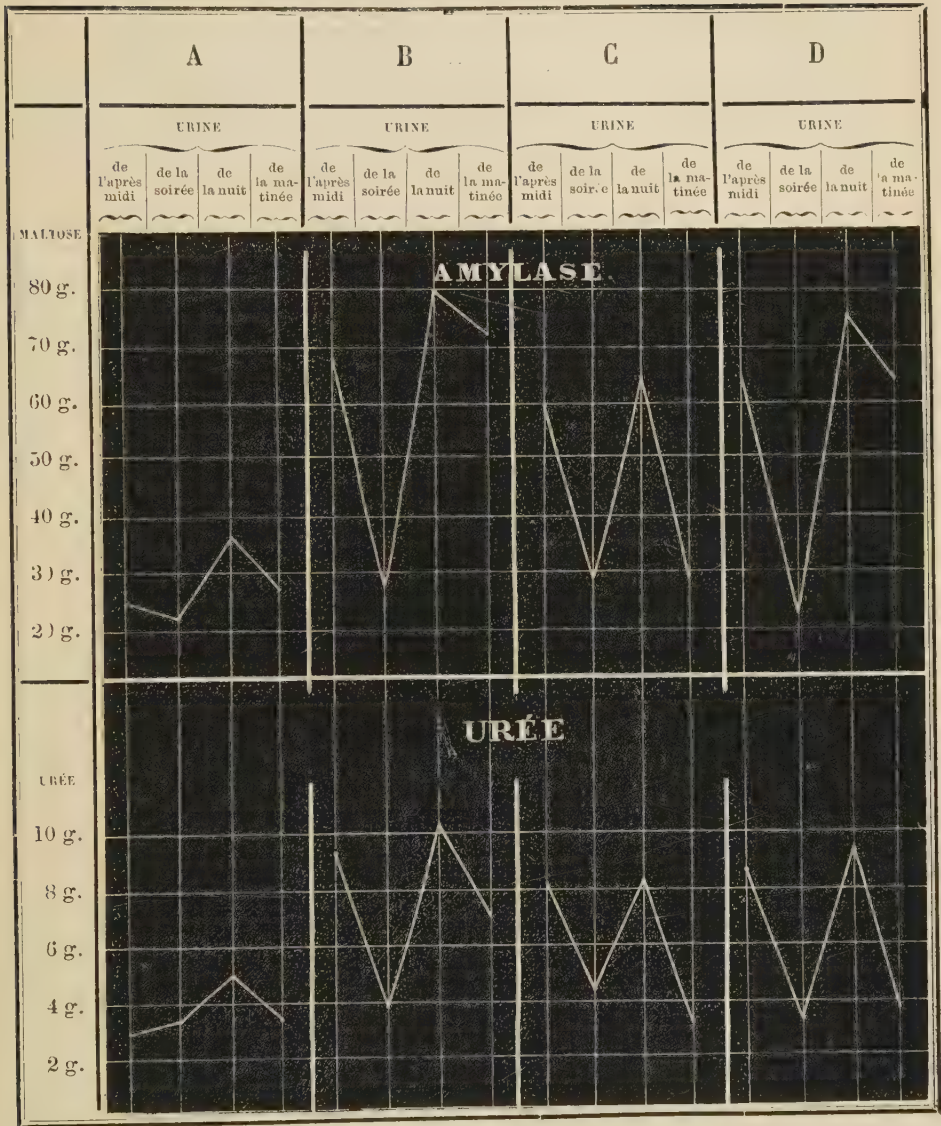
Si l'urée suit en sens inverse les oscillations de l'amylase sous l'influence de régimes exclusifs, il n'en est pas de même avec un régime mixte, comme va nous le montrer l'expérience suivante.

Cet essai avait pour but de rechercher à quel moment de la journée se trouvaient les maxima et minima de diastase.

L'expérience a été faite avec l'urine de quatre personnes à peu près du même âge, ayant le même genre d'occupation et soumises à un régime alimentaire sensiblement le même. Je les désigne par les lettres A, B, C, D.

	URINE ÉNISE.	URÉE PAR LITRE.	URÉE TOTALE.	SUCRE RÉDUCTEUR pour 10 cc. d'urine dans 100 cc. empois.	SUCRE TOTAL.
<i>1^{re} Urine de midi à 6 heures:</i>					
A	190	16 g. 0	3 g. 04	1 g. 34	25 g. 48
B	600	15 g. 5	9 g. 30	1 g. 14	68 g. 40
C	430	19 g. 0	8 g. 17	1 g. 39	59 g. 77
D	415	21 g. 0	8 g. 71	1 g. 56	64 g. 74
<i>2^{re} Urine de 6 heures à 9 heures du soir.</i>					
A	190	18 g. 25	3 g. 46	1 g. 26	23 g. 94
B	220	18 g. 00	3 g. 96	1 g. 26	27 g. 72
C	260	17 g. 25	4 g. 48	1 g. 11	28 g. 86
D	175	19 g. 50	3 g. 41	1 g. 56	24 g. 20
<i>3^{re} Urine de la nuit.</i>					
A	380	13 g. 0	4 g. 94	0 g. 96	36 g. 48
B	500	20 g. 2	10 g. 1	1 g. 59	79 g. 50
C	420	19 g. 5	8 g. 19	1 g. 56	65 g. 52
D	480	19 g. 75	9 g. 45	1 g. 59	76 g. 32
<i>4^{re} Urine de la matinée.</i>					
A	200	14 g. 0	2 g. 80	1 g. 38	27 g. 60
B	510	14 g. 0	7 g. 14	1 g. 41	71 g. 91
C	175	18 g. 0	3 g. 15	1 g. 65	28 g. 87
D	205	19 g. 0	3 g. 89	2 g. 07	64 g. 35

Voici les courbes de l'amylase et de l'urée.



Le maximum d'amylase comme celui de l'urée est obtenu avec l'urine de la nuit et, en outre, il y a bien ici un certain rapport entre la sécrétion de l'urée et celle de la diastase.

On peut s'expliquer aisément cette concordance par l'influence du régime mixte.

M. Béchamp avait remarqué que l'urine de la nuit était la plus riche en néfrozymase ; de même W. Sahli a observé des variations correspondantes à celles qu'établit l'expérience précédente, avec la diastase peptique de l'urine ; mais pas plus que M. Béchamp il n'a pu se rendre compte de la cause de ces différences.

L'explication devient des plus faciles pour nous après l'étude précédemment faite concernant l'influence de l'alimentation. Ainsi se trouvent vérifiées d'une manière remarquable les expériences de M. Duclaux concernant le mécanisme de la sécrétion des diastases.

CHAPITRE IV

Origine de la diastase.

L'étude des phénomènes de la nutrition, chez les êtres vivants, nous enseigne que les aliments ingérés ne peuvent devenir assimilables qu'après avoir été modifiés, transformés par les diastases de l'organisme. A la pepsine, sécrétée par certaines glandes de l'estomac, échoit le rôle de solubiliser les matières albuminoïdes ou fibrineuses; le pancréas, aidé de la bile, émulsionne les graisses et saccharifie les matières féculentes; l'intestin grêle partage cette dernière fonction avec le pancréas. Les matières ainsi solubilisées sont emportées ensuite dans le torrent circulatoire.

En remarquant que chacun de ces organes sécrétait une diastase, M. Béchamp fut « amené à penser » que le rein devait aussi en contenir une; il rechercha la néfrozymase dans l'urine, mais il affirma qu'elle était sécrétée par le rein.

M. Béchamp n'apporta, il est vrai, aucune preuve à l'appui de ses conclusions; toutefois dans son livre sur les *Microzymas* ⁽¹⁾, il invoque une expérience de MM. J. Béchamp et E. Baltus ⁽²⁾ qui ont trouvé de la néfrozymase dans les uretères d'un chien. Cela pouvait démontrer que la diastase ne se formait pas dans la vessie, mais cela ne prouvait point qu'elle fût sécrétée par le rein.

Admettre la sécrétion d'une diastase par cet organe, n'était-ce pas lui attribuer un rôle physiologique comparable à celui qu'on lui avait longtemps prêté au sujet de la formation de l'urée? Or

(1) A. Béchamp, *Les Microzymas*, Paris, 1883.

(2) J. Béchamp et E. Baltus, *Sur l'origine rénale de la néfrozymase* (*Comptes rendus*, t. XCII).

personne ne conteste plus aujourd'hui le rôle négatif du rein, après la belle expérience de Dumas et Prévost, et les savantes recherches de Gréhant et Quinquaud.

J'espère montrer que le rein est aussi étranger à la formation de l'amylase qu'à celle de l'urée.

I

Je me suis borné tout d'abord à quelques essais comparatifs sans grande précision avec de l'urine et des portions de rein d'un même animal. J'ai vu que, toutes choses égales d'ailleurs, une faible quantité d'urine pouvait transformer beaucoup plus d'empois que le rein. J'ai même constaté la présence de l'amylase dans la vessie en proportions plus notables que dans le rein.

Voici une expérience plus précise.

Je mets un lapin en cage de façon à pouvoir recueillir l'urine des vingt-quatre heures. Après ce temps, je sacrifie l'animal et j'obtiens les résultats suivants :

	Volume d'urine.
Urine des 24 heures.....	80 cent. cubes.
Urine trouvée dans la vessie....	32 id.

Dans trois fioles de 100 centimètres cubes contenant de l'empois thymolisé, j'ajoute (a) 10 centimètres cubes de l'urine trouvée dans la vessie, (b) même volume de l'urine des vingt-quatre heures, (c) un rein entier haché (1).

Après vingt-quatre heures d'étuve on trouve, après calcul (2) :

	Maltose 0/0.
Urine de la vessie.....	4 g. 50
Urine des 24 heures.....	10 g. 88
Rein entier.....	3 g. 20

Voilà donc un organe qui sécrète une diastase et qui en contient

(1) J'avais haché les deux reins, une moitié avait été portée à 100°, pour l'utiliser comme témoin; elle n'a pas donné trace de réduction.

(2) (a) avait donné 1 g. 43 de maltose et (b) 1 g. 36.

moins que l'urine d'une émission, car j'admets qu'on peut considérer comme telle l'urine trouvée dans la vessie, après la mort.

Voici une expérience plus probante faite avec une lapine sur le point de mettre bas : 10 centimètres cubes d'urine donnèrent dans les conditions ordinaires 1 g. 75 0/0 de maltose ; le rein entier ne donna que 0 g. 92, c'est-à-dire moins que 10 centimètres cubes d'urine, et il y avait 70 centimètres cubes d'urine dans la vessie qui auraient fourni 12 g. 25 de sucre réducteur.

Enfin, on verra page 53 qu'il est possible de trouver des reins ne contenant plus d'amylase alors qu'on en peut caractériser dans l'urine.

Dans les tableaux des pages 37 et 38, on peut voir que la diastase n'augmente pas, en valeur absolue, quand le volume de l'urine s'accroît ; elles permettent même d'observer le contraire. Or, si le rein était le siège de la sécrétion de la diastase, il paraît probable que plus la trame de son tissu serait traversée par des volumes croissants d'urine, et plus on devrait trouver d'amylase dans le liquide.

Ces mêmes expériences ont montré à quelles variations est soumise la sécrétion de l'amylase, sous l'influence du régime alimentaire, variations des plus faciles à expliquer si on admet que cette diastase n'est pas sécrétée par le rein, peu compréhensibles dans le cas contraire.

Si on remarque enfin que l'urine contient une diastase digestive, il sera facile d'entrevoir la véritable origine des deux diastases.

II

Si l'amylase de l'urine n'est pas sécrétée par le rein, encore faut-il pouvoir démontrer que cette *matière albuminoïde* est susceptible de traverser cet organe.

A priori, il ne paraît pas impossible qu'il puisse en être ainsi, car les diastases sont dialysables.

On sait que la sucrase sécrétée par la levure de bière traverse très bien la membrane du champignon et il en est de même de

toutes les diastases sécrétées par les moisissures. Nous avons pu, M. Gayon et moi ⁽¹⁾, obtenir, dans certains cas déterminés, jusqu'à 60 0/0 de la matière albuminoïde des levures et des moisissures, sans que celles-ci fussent tuées par les traitements auxquels nous les avons soumises. Et ces expériences se rapprochent beaucoup plus des conditions naturelles, au point de vue de la perméabilité des membranes cellulaires de l'organisme, que les essais qu'on peut faire dans les laboratoires avec les diverses membranes artificielles.

M. Gayon ⁽²⁾ a d'ailleurs établi le rôle respectif des membranes vis-à-vis des diastases en général.

Pour compléter ces recherches, j'ai fait une expérience avec l'amyrase de l'urine.

Je mets dans un endosmomètre 10 centimètres cubes d'urine thymolisée et dans la fiole inférieure 30 centimètres cubes d'eau distillée également thymolisée.

Après trente heures, je recueille :

<i>a</i>	L'urine de l'endosmomètre.
<i>b</i>	Le liquide inférieur.
<i>c</i>	La membrane (en papier parchemin).

Je prépare quatre fioles dont les trois premières contiennent chacun des liquides et la membrane, la quatrième, 10 centimètres cubes de la même urine que j'avais réservée dans une fiole à côté de l'appareil. Je complète le volume de 100 centimètres cubes avec de l'empois thymolisé. Après vingt-quatre heures d'étuve (50°), j'obtiens :

		Maltose 0/0.
<i>a</i>	0 g. 83	} 1 g. 71
<i>b</i>	0 g. 52	
<i>c</i>	0 g. 36	
<i>d</i>		1 g. 98

(1) Gayon et Dubourg, *Sur la sécrétion anormale des matières azotées de levures et de moisissures* (Comptes rendus, avril 1886).

(2) Gayon, *Procès-verbaux de la Société des Sciences physiques et naturelles de Bordeaux*, 1883.

a, *b*, *c* ne donnent pas des chiffres formant un total égal à celui de *d*, car il y a évidemment des pertes dans les diverses manipulations; mais la dialyse de l'amylase résulte bien de l'expérience.

III

Pour que la démonstration soit complète, il suffira de démontrer qu'une diastase est susceptible de traverser le rein.

Si j'injecte dans le système veineux la solution d'une diastase, si elle passe à travers le rein et se retrouve dans l'urine, la preuve sera faite.

J'ai choisi la sucrase, car elle n'existe ni dans le rein ni dans l'urine, à l'état normal, du moins, comme je m'en suis assuré maintes fois.

Première expérience.

Je mets un lapin en cage, de façon à pouvoir recueillir son urine. Après vingt-quatre heures, je fais un essai en ajoutant à 100 centimètres cubes de ce liquide 5 grammes de sucre de canne; je n'ai pas trace de réduction après douze heures d'étuve (50°).

J'injecte alors dans la veine fémorale 20 centimètres cubes d'une solution de sucrase, dont 1 centimètre cube réduit 2 g. 90 de sucre dans 100 centimètres cubes d'eau, après dix heures d'étuve.

Je remets le lapin dans la cage. Après quelques heures, j'ai recueilli 120 centimètres cubes d'urine. Je les partage en deux parties : une fiole (*a*) est portée à 100°, puis, après refroidissement, additionnée de 5 grammes de sucre de canne; la deuxième (*b*) est également additionnée de sucre, mais sans aucun traitement préalable. J'ajoute 1/1000° de thymol et je porte à l'étuve (50°).

Après 12 heures.

<i>a</i>	Pas de réduction.
<i>b</i>	0 g. 55 0/0 de sucre interverti.

J'ai obtenu les mêmes résultats dans deux autres expériences.
Une diastase peut donc passer du sang dans l'urine.

Deuxième expérience.

Après avoir éprouvé l'urine d'un animal (lapin) comme précédemment, j'injecte 30 centimètres cubes d'une solution de sucrase dont 1 centimètre cube transforme 3 g. 65 0/0 de sucre après dix heures.

Une heure après l'opération, l'animal est sacrifié; il avait déjà uriné 65 centimètres cubes de liquide : j'ai obtenu avec ce volume 0 g. 28 0/0 de sucre interverti en douze heures.

Mais j'avais pris également les deux reins dans le but de rechercher si cet organe ne localiserait pas la sucrase.

Après les avoir bien lavés extérieurement, je les ai coupés en petits morceaux avec des ciseaux flambés. Une moitié de la masse fut portée à 100°, puis, après refroidissement, additionnée d'eau thymolisée contenant 5 0/0 de sucre de canne. Une deuxième fiole, contenant le rein non chauffé, fut additionnée de la même eau sucrée.

Après 12 heures d'étuve (30°).

1 ^{re} fiole.	Traces de réduction.
2 ^e fiole	2 g. 62 0/0 de sucre interverti.

Ainsi, en une heure, le rein avait déjà localisé une proportion notable de la sucrase injectée. Nul doute que si l'animal avait survécu, l'urine n'eût entraîné peu à peu la diastase retenue par le rein avec tant d'activité.

Cette expérience explique pourquoi le rein peut contenir quelquefois une proportion assez élevée de l'amylase de l'urine et apporte ainsi une preuve nouvelle de la non-sécrétion de la diastase par cet organe.

IV

Puisque le rein ne sécrète pas l'amylase, il reste enfin à rechercher sa véritable origine.

J'étudierai l'amylase contenue dans le sang et si je démontre qu'elle possède les mêmes propriétés physiologiques que celle de l'urine, que ses variations sont soumises aux mêmes influences, il me sera sans doute possible de les faire dériver l'une de l'autre.

J'irai plus loin : en étudiant la diastase du foie, je prouverai que, pareille à celle du sang et de l'urine, elle possède les mêmes propriétés physiologiques et obéit aux mêmes lois.

J'exposerai d'abord les expériences relatives à la nature des deux amylases, ramenant ensuite dans un même paragraphe l'étude de leurs variations.

A. AMYLASE DU SANG.

Magendie et Claude Bernard avaient observé que le sérum du sang peut saccharifier l'amidon. Les essais qui suivent confirment les observations des illustres savants.

Première expérience.

Je sacrifie un lapin soumis à un *régime amyglacé*, je recueille le sang à la sortie de la veine. J'en verse ensuite 20 centimètres cubes dans une fiole de 100 centimètres cubes, et je complète le volume de 100 centimètres cubes avec de l'empois thymolisé. Une seconde fiole additionnée aussi d'empois, mais contenant le même volume de sang préalablement chauffé à 100°, est portée avec la première à l'étuve (37°) (1). Après vingt-quatre heures, on a :

	Maltose 0 0.
	—
1 ^{re} fiole.....	1 g. 42
2 ^e fiole.....	traces

On n'obtient pas toujours des chiffres aussi élevés, parce que, d'une part, le caillot retient une partie de la diastase, et, d'autre part, pour faire les essais à la liqueur de Fehling, il faut coaguler le liquide par la chaleur, puis filtrer sur du noir, toutes manipulations qui entraînent des pertes.

(1) Les expériences avec le sang ont été faites à 37°5 afin d'éviter la coagulation des matières albuminoïdes qui commence quelquefois à 50°.

Deuxième expérience.

Dans le but de rechercher si l'amylase du sang poussait l'hydratation jusqu'au glucose, je prépare une solution de maltose dont je prends 50 centimètres cubes, que je verse dans une fiole de 100 centimètres cubes; j'ajoute 25 centimètres cubes de sang provenant d'un animal (lapin) soumis à un régime amylacé depuis cinq jours (*a*). Une deuxième fiole contient les mêmes volumes de solution de maltose et de sang chauffée à 100° (*b*). Après deux jours d'étuve (37°5), on obtient :

	Rotation en degrés saccharimétriques.	Différence.	Volume de liqueur dédoublée pour décolorer 10 cc. liqueur de Fehling.	Différence.
	—	—	—	—
<i>a</i>	16.80	»	8.2	»
<i>b</i>	20.50	3.7	9.6	1.4

Il y a eu hydratation, puisque le pouvoir réducteur a augmenté en (*a*) lorsque la rotation diminuait.

Les transformations provoquées par l'amylase du sang sont donc de même nature que celles qu'on observe avec la diastase de l'urine.

B. AMYLASE DU FOIE.

Depuis le jour où Claude Bernard annonça la présence, dans le foie, d'une diastase susceptible de transformer le glycogène en sucre assimilable, des travaux considérables ont été entrepris dans le but de vérifier les conclusions de l'illustre physiologiste.

Dans un mémoire récent ⁽¹⁾, M. Dastre, après avoir fait un historique complet de la question, après avoir rappelé et discuté les assertions contradictoires de divers savants, conclut, après de nombreuses expériences, à la non-existence d'une diastase isolable, séparable. Cependant, comme il a observé formation de sucre réducteur, il attribue le phénomène à l'activité vitale des cellules hépatiques.

⁽¹⁾ Dastre, *Physiologie du foie. Recherches sur les ferments hépatiques* (Archives de physiologie normale et pathologique, 1888).

M. Dastre, il est vrai, expérimente à la température de 0°; or, comme la diastase est en très faible quantité dans le foie, dans les conditions où il opère, on ne saurait être surpris des résultats négatifs obtenus.

J'ai fait mes essais avec des foies hydrotomisés, selon le procédé indiqué par M. Dastre lui-même; j'ai même poussé quelquefois les lavages plus loin, et, jamais, je n'ai pu débarrasser complètement ces organes de l'amylase. Mais au lieu de porter les mélanges d'empois et de foie à la glacière, j'expérimentais à 50°, après addition de 1/500^e de thymol : les liquides étant ici plus susceptibles d'être altérés.

J'ai eu l'occasion de prendre deux parties d'un même foie, l'une était portée à la glacière après addition d'empois, l'autre à 50°; cette dernière seulement me donnait du sucre réducteur, en proportions dosables.

Avec les foies longuement lavés, on obtient quelquefois des traces de maltose, tandis que si l'on a soin, quand le lavage est commencé depuis quelques minutes, de détacher un des lobes, il fournit souvent, toutes choses égales d'ailleurs, dix fois plus de sucre réducteur qu'un poids égal du même organe lavé.

On se trouve dès lors en présence de deux hypothèses : ou bien l'amylase est sécrétée par les cellules du foie ou elle est apportée par le sang.

La diminution de la diastase, sous l'influence du lavage, n'implique pas, en effet, sa présence exclusive dans le sang. Puisqu'elle est dialysable, elle peut être entraînée par l'eau et traverser les membranes cellulaires, car il se produit évidemment des phénomènes d'osmose pendant le lavage.

Cependant, il est beaucoup plus probable que l'amylase du foie provient du sang : j'appuie cette opinion sur les faibles quantités de diastase qu'on trouve ordinairement dans cet organe, même non lavé, mais aussi sur les variations que nous verrons se produire sous l'influence du régime alimentaire.

En ce qui concerne son rôle physiologique, peu importe qu'elle soit sécrétée par les cellules hépatiques ou apportée par le sang;

dans ce dernier cas, rien ne s'oppose à admettre que les échanges osmotiques continuels qui s'opèrent entre le sang des capillaires et les liquides des tissus dont il parcourt la trame, ne doivent permettre à l'amylase de traverser les membranes et de se trouver en présence du glycogène localisé dans le foie.

En terminant, voici quelques chiffres obtenus avec des foies provenant tous d'animaux soumis à un régime amylicé.

Après avoir broyé l'organe, j'en ajoute 10 grammes à 100 centimètres cubes d'empois thymolisé à 1/500°.

Après vingt-quatre heures d'étuve (50°) :

	Maltose 0.0.
<i>a</i> Foie non lavé.....	1 g. 12
<i>b</i> Témoin (foie préalablement chauffé à 100°)...	traces
<i>c</i> Foie lavé.....	0 g. 12
<i>d</i> Témoin.....	traces

L'expérience avec le maltose a donné les chiffres suivants après trois jours d'étuve :

	Rotation en degrés saccharimétriques.	Quantité de liqueur dédoublée pour décolorer 10 cc. liqueur Fehling.
<i>a</i>	19.20	7 cc. 2
<i>b</i>	23.50	8 cc. 7
<i>c</i>	23.30	8 cc. 6
<i>d</i>	23.45	8 cc. 8

La différence est sensible en *a*, mais à peine sensible en *c*. Le foie a donc hydraté le maltose, et cette transformation est bien due à une diastase, puisque les témoins n'ont pas subi de modifications.

Comme l'avait vu Claude Bernard, le foie contient bien une amylase, et cette amylase possède les mêmes propriétés physiologiques que celles du sang et de l'urine.

C. VARIATIONS DES DEUX AMYLASES.

Je réunis ici deux expériences faites exactement dans les mêmes conditions, avec les organes de deux lapins soumis depuis huit

jours au régime indiqué. J'ai ajouté le rein et l'urine, afin que la comparaison fût complète.

Les chiffres indiquent les quantités de maltose formé après vingt-quatre heures d'étuve.

	LAPIN N° 1. Régime amylicé.	LAPIN N° 2. Régime végétal (herbée).
Sang.....	1 g. 05	0 g. 62
Foie non lavé	1 g. 32	traces
Foie lavé.....	0 g. 12	traces
Rein.....	1 g. 92	traces
Urine.....	1 g. 75	0 g. 37

Les essais ont été faits avec 10 centimètres cubes de sang, 10 grammes de foie, un rein entier, 10 centimètres cubes d'urine.

J'ai trouvé dans la vessie du premier lapin 70 centimètres cubes d'urine : ce volume aurait donné dans les mêmes conditions 12 g. 25 de sucre réducteur; l'urine trouvée dans la vessie du second (45 centimètres cubes) eût fourni seulement 1 g. 67.

Ces expériences montrent bien que l'alimentation n'influe pas seulement sur l'amylase de l'urine; la sécrétion de la diastase du foie, du sang est également atteinte.

Si l'on remarque, en se reportant aux recherches de M. Bourquelot, que les amylases sécrétées ou retenues par le pancréas et l'intestin possèdent exactement les mêmes propriétés physiologiques, on peut se demander si toutes ces diastases n'ont pas la même origine, ne proviennent pas des viscères abdominaux.

Mais des expériences qui précèdent se dégagent aussi une nouvelle conclusion : puisque ces amylases poussent l'hydratation des matières féculentes jusqu'au glucose, elles rendent compte de la nature du sucre de diabète.

On trouve, en effet, constamment du glucose et non du maltose dans l'urine des diabétiques. J'ai eu l'occasion d'examiner un nombre considérable de ces urines, et j'ai toujours trouvé du glucose.

Mais lorsqu'on fait des expériences en faisant agir des urines de diabétique sur des solutions de maltose, on remarque que les transformations sont ordinairement faibles et d'autant moins

sensibles que le diabète présente un caractère plus grave. On pourrait sans aucun doute trouver une explication à ces anomalies apparentes, mais ceci est en dehors du cadre de mon travail actuel.

Quant à la nature du sucre contenu dans le sang, il semble qu'il soit plus malaisé de se prononcer. C'est probablement du glucose, mais rien n'empêche de supposer qu'il puisse y avoir un mélange des deux sucres, comme l'ont affirmé Musculus et de Mering.

Quelques expériences tentées dans le but d'élucider le problème n'ont pu me fournir que des résultats douteux.

Si on provoque la glycosurie chez divers animaux au moyen d'injections de glucose, on trouve toujours du glucose seul dans l'urine. Je l'ai observé dans quatre expériences.

Le diabète expérimental obtenu avec la phlorizine conduit aux mêmes résultats, comme l'ont observé récemment MM. Germain Sée et Gley (4).

Je citerai cependant une observation dans laquelle j'ai obtenu des chiffres autorisant peut-être quelques doutes.

J'avais injecté à un lapin de l'eau de levure pour me rendre compte du passage de la sucrase à travers le rein; l'animal eut un accès de glycosurie passagère.

J'obtins avec l'urine essayée :

Rotation en degrés saccharimétriques.	Sucre calculé d'après la rotation.	Sucre calculé d'après la réduction.
—	—	—
4° I	0 g. 84 en glucose.	0 g. 60 en glucose.
»	0 g. 30 en maltose.	0 g. 90 en maltose.

En chauffant à 105°, comme l'indique M. Bourquelot, j'ai obtenu une légère diminution de rotation, en même temps que le pouvoir réducteur de la liqueur augmentait sensiblement. Malheureusement, il m'a été impossible de provoquer de nouveau un accident semblable avec l'eau de levure.

D'ailleurs, tant qu'on n'aura pu parvenir à isoler le sucre du

(4) Germain Sée et Gley, *Comptes rendus*, février, 1889.

sang, il restera un doute à ce sujet. MM. Dastre et Bourquelot, en opérant avec cinq litres de sang, ont obtenu une matière réductrice, qui, d'après eux, aurait pu être transformée en glucose, par suite des manipulations subies par les liqueurs, dans le cas où il y aurait eu du maltose.

J'ai moi-même fait un essai avec vingt litres de sérum de sang de bœuf; j'ai obtenu une matière réductrice très dosable, puisqu'elle correspondait à 6 g. 80 par litre calculée en glucose; mais, chose singulière, j'avais en même temps une rotation gauche légère que ni la chaleur ni les acides n'ont pu faire disparaître: je l'ai attribuée à une matière albuminoïde.

Il reste donc là une lacune que des difficultés expérimentales particulières rendent très difficile à combler.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

1° Après avoir fixé les meilleures conditions d'expériences, j'ai établi la nature et le rôle de la *néfrozymase* de M. Béchamp : c'est une amylase poussant l'hydratation de l'amidon jusqu'au glucose; caractère qui la distingue de la diastase du malt.

2° L'étude des conditions physiologiques de l'action de cette amylase m'a permis de confirmer les expériences de M. Duclaux, concernant le mécanisme de la sécrétion des diastases.

3° En rapprochant les diverses propriétés de l'amylase de l'urine de celles des autres amylases de l'organisme, j'ai pu montrer leur identité et apporter des preuves suffisantes en faveur de leur origine commune : les viscères abdominaux.

Si l'on admet, avec M. Duclaux⁽¹⁾, que dans l'acte de la digestion intestinale, la part des diastases sécrétées par les micro-organismes est au moins comparable, pour sa puissance, à celles des diastases provenant des liquides normaux de l'organisme, on peut se rendre compte, d'après les recherches qui viennent d'être exposées, du rôle considérable joué par les microbes, dans les phénomènes généraux de la nutrition.

4° La nature des transformations provoquées par ces diverses amylases nous fournit l'explication de la présence constante du glucose seul dans les urines sucrées.

(1) *Microbiologie*, p. 804.

SECONDE THÈSE

PROPOSITIONS DE PHYSIQUE DONNÉES PAR LA FACULTÉ

L'Osmose. Travaux de M. Van'T Hoff.

Vu et approuvé :

Paris, le 13 avril 1889.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

E. HÉBERT.

Vu et permis d'imprimer :

Paris, le 13 avril 1889.

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,

GRÉARD.

